

THESIS

MARBURG

1965

Aus der Universitäts-Kinderklinik in Marburg

Direktor: Prof. Dr. med. F. Linneweh

Die fibrinolytische Aktivität der Blutzellen bei Kindern verschiedenen Alters

Inauguraldissertation

zur

Erlangung des Doktorgrades

in der gesamten Medizin der Hohen Medizinischen Fakultät
der Philipps-Universität zu Marburg/Lahn

vorgelegt von

Agoston Bocskor

aus Budapest

LANE MEDICAL LIBRARY
STANFORD UNIVERSITY
300 PASTEUR DRIVE
PALO ALTO, CALIF.

Marburg 1965

Fotodruck von Erich Mauersberger in Marburg

Aus der Universitäts-Kinderklinik in Marburg

Direktor: Prof. Dr. med. F. Linneweh

**Die fibrinolytische Aktivität
der Blutzellen
bei Kindern verschiedenen Alters**

Inauguraldissertation

zur

Erlangung des Doktorgrades

in der gesamten Medizin der Hohen Medizinischen Fakultät
der Philipps-Universität zu Marburg/Lahn

vorgelegt von

Agoston Bocskor

aus Budapest

Marburg 1965

Fotodruck von Erich Mauersberger in Marburg

Angenommen von der Medizinischen Fakultät
der Universität Marburg am 4.2.1965

Gedruckt mit Genehmigung der Fakultät

Dekan: Prof. Dr. med. H. Hensel

Referent: Prof. Dr. med. J. Oehme

Correferent: Prof. Dr. med. G.A. Martini

Inhaltsverzeichnis

Seite

I. Einleitung:

- a) Fibrinolyse 4
- b) Aufgabe und Ziel der vorliegenden Arbeit 5

II. Methode und Material

- A) Herstellung von Erythrocytenhämolysat 6
- B) Herstellung von Leukocyten suspension 6
- C) Astrup-Lassen Fibrinplatten 8

III. Ergebnisse der Untersuchungen mit

- A) Erythrocytenhämolysat 10
- B) Leukocyten suspension 25

IV. Diskussion

- A) Die fibrinolytische Aktivität des Erythrocytenhämolysates 31
- B) Die fibrinolytische Aktivität der Leukocyten suspension 32
- C) Kritische Betrachtungen zu den Methoden 34
- D) Besonderheiten der Neugeborenenperiode 36

V. Zusammenfassung 39

VI. Literaturverzeichnis 41

I. Einleitung

Im letzten Jahrzehnt hat die Erforschung der Fibrinolyse eine sprunghafte Entwicklung erfahren, als bekannt wurde, welche Bedeutung sie für den Organismus besitzt und welchen Nutzen ihre künstliche Hemmung oder Förderung in der klinischen Fragestellung hat.

Das Phänomen der Fibrinolyse selbst ist bereits seit langem bekannt. Nach der heute gültigen Hypothese wird der komplizierte Reaktionsmechanismus, der diesem Vorgang zugrunde liegt, wie folgt erklärt: es wird ein Proaktivator in Aktivator überführt, der das Plasminogen (Profibrinolysin) in Plasmin (Fibrinolysin) umwandelt (52). Das Plasmin baut dann das Fibrin enzymatisch ab (vgl. Abb. 1)

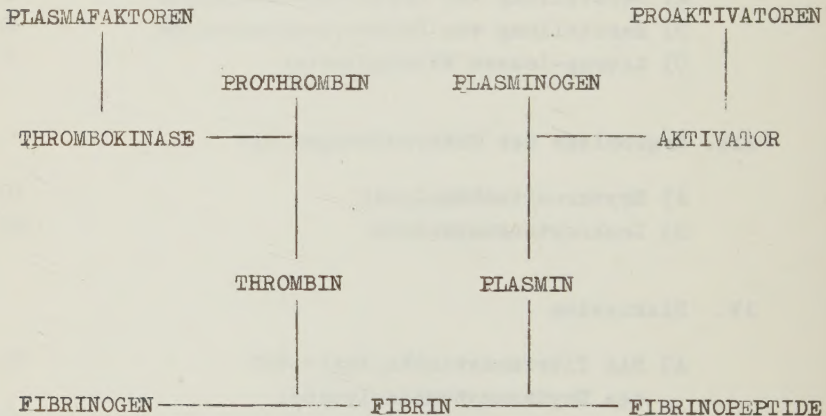


Abb. 1 Vergleich zwischen Blutgerinnung und Fibrinolyse. Die Fibrinolyse zeigt eine auffallende Parallelität zur Blutgerinnung.

Die im Blut vorhandenen inaktiven Proaktivatoren müssen erst durch sogenannte Lysokinasen zu aktiven Blutaktivatoren überführt werden; hochaktive Lysokinasewirksamkeit zeigen verschiedene Bakterientoxine, menschliche Ascitesflüssigkeit und sogenannte wasserlösliche Gewebelysokinasen. Die Wirkung der Streptokinase soll darauf beruhen, daß sie als Lysokinasen den Proaktivator in Aktivator überführt.

Als besonders strittiges Problem des Fibrinolyseablaufes gilt die Frage, ob der Proaktivator im Plasma des Menschen mit Plasminogen identisch ist oder nicht. Es gibt bisher keinen Hinweis dafür, daß Proaktivator und Plasminogen zwei substantiell verschiedene

Faktoren sind (19), so daß man annehmen müßte, daß die Streptokinase direkt auf das Plasminogen einwirkt. Für die Existenz eines besonderen Proaktivators wird vor allem angeführt, daß unter bestimmten Bedingungen dieser (Pro-)Aktivator zerstört werden kann, während Plasminogen und Plasmin stabil bleiben.

Das Fibrinolysin ist nicht spezifisch auf das Fibrin eingestellt. Es greift auch Fibrinogen sowie die chemisch nahe verwandten Gerinnungsfaktoren V und VIII an, ebenso gewisse andere Eiweißkörper wie Casein, Gelatine, Lactoglobulin und Hormone usw (26,52). Trotz diesem relativ breiten Wirkungsspektrum besteht eine gewisse Spezifität insofern, als die Vorstufe des Fibrinolysin (Profibrinolysin) in selektiver Weise an das Fibrin adsorbiert wird und dadurch nach erfolgter Aktivierung viel unmittelbarer auf das Fibrin einwirken kann (1).

Von größter Bedeutung für den Ablauf der Fibrinolyse sind die Inhibitoren. Sie beschränken die Proteolyse auf das biologisch erforderliche Maß und weitgehend nur auf das Fibrin. Es gibt Inhibitoren gegen Aktivatoren und gegen das Ferment Plasmin.

Unsere Kenntnisse von der fibrinolytischen Aktivität menschlicher Blutzellen sind jedoch noch sehr gering (45). Über die fibrinolytische Aktivität der Leukocyten liegen mit der Fibrinplattenmethodik überhaupt noch keine Untersuchungen vor. Auch fehlen Mitteilungen über altersabhängige Abweichungen der Aktivität von Erythrocyten und Leukocyten. Die unterschiedlichen Verhältnisse bei Kindern verschiedener Altersstufen und Erwachsenen sowie die vielfältigen Besonderheiten bei Neugeborenen lassen vermuten, daß auch für die fibrinolytischen Aktivitäten der Blutzellen eine Altersabhängigkeit besteht. Die Arbeit hatte zum Ziel, diese Frage unter besonderer Berücksichtigung der Neugeborenenperiode zu prüfen; denn gerade während dieser Zeit bestehen die meisten Unklarheiten über die physiologischen Grundlagen der Blutgerinnung und Fibrinolyse (42).

Zur Erfassung der einzelnen Komponenten der fibrinolytischen Aktivität ist die von ASTRUP und LASSEN entwickelte Fibrinplatte geeignet. Wir verwandten zur Prüfung der fibrinolytischen Aktivität von Blutzellen als Testlösung Erythrocytenhämolyat und Leukocytensuspension.

11. Methode und Material

A. Erythrocytenhämolysat

Zur Gewinnung von thrombocyten- und leukocytenfreier Erythrocytensuspension wurde Citratblut so schnell wie möglich verarbeitet, um einen Verlust des fibrinolytischen Fermentes und seiner Vorstufe zu vermeiden. Bei 1000 Touren wurde zweimal fünf Minuten lang zentrifugiert und das thrombocyten- und leukocytenreiche Plasma mit der obersten Zellschicht abgesaugt. Danach wurden die Erythrocyten fünf Mal bei 1500, 2000, 2500, 3000 und 3500 U/Min. je zehn Minuten lang mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschen. Wir fanden bei der Thrombocytenzählung keine oder nur vereinzelte Plättchen, bei der Leukocytenzählung allerdings schwankten die Zellzahlen zwischen 200 und 400 mm^3 .

Hämolyse wurde durch Zugabe von aqua dest. und anschließendes Einfrieren und Auftauen erzielt. Der für das Hämolysat von uns gewählte Hb-Wert lag zwischen 13 und 15 g%. Die Einstellung erfolgte mit aqua dest. nach dem letzten Zentrifugieren unter Berücksichtigung des normalen Hämatokrit-Wertes.

Es wurden von der so gewonnenen Testlösung einmal 0,03 ml ohne Streptokinase und dann 0,015 ml mit 0,015 ml Streptokinaselösung (5000 E/ml) auf die Fibrinplatten getropft.

B. Leukocyten-Isolierung

Zur Isolierung von Leukocyten existieren bis jetzt nur wenige brauchbare Methoden (3, 38, 43, 54) und bei keiner dieser Methoden gelingt es, die Leukocyten vollkommen frei von Erythrocyten darzustellen. Die von uns angewandte Methode beruht auf der Trennung der weißen von den roten Blutkörperchen durch die spezifisch erythrocytenagglutinierende Wirkung der Phythaemagglutination (36).

Material:

3%-ige Dextran-Lösung (Pharmachem Corp., Bethlehem, Pa., Clinical Grade HH, M.W. 200 000 - 300 000, Lot HH 82262
3 g Dextran ad 100 ml physiol. NaCl-Lösung
Eleparon (Leutpold)
Phythaemagglutination M-Lösung (DIFCO-Laboratories, Detroit, Code 052856, Prod. Description Control 456 489).
Lösung des Inhaltes einer 5 ml Ampulle in 5 ml a.dest. (Lösung nach Vorschrift).
Plastikkapillare 3 x 4 mm. Es wurden 10 cm lange Kapillaren verwendet, von denen ein Ende durch Erhitzen zum Schmelzen gebracht und mit einer Flachzange zusammengedrückt wurde.

Durchführung:

Es wurden 10 ml venösen Blutes unter Heparinzusatz entnommen und sofort verarbeitet, da andernfalls die Leukocytenausbeute zu gering sein kann.

Das Blut wurde mit 20 ml (also der doppelten Menge) der 3%-igen Dextranlösung versetzt. Jeweils 5 ml des Blut-Dextran-Gemisches wurden in 10 ml Röhrchen über 20 Min. sedimentiert. Nach Abheben und Vereinigung der Überstände erfolgte Zentrifugieren über 20 Min. (1 200 U/Min.) und Dekantieren der Überstände. Das Sediment wurde mit jeweils einem Tropfen der Phythaemagglutininlösung M. versetzt und nach einer Inkubation von 5 bis 10 Minuten mit einem dünnen Plastikschauch in die vorbereiteten Plastikkapillaren überführt. (Die Phythaemagglutinin M-Lösung kann je nach Fabrikationsserie von stärkerer Wirkung sein, so daß sie auch die Leukocyten zum Zusammenballen bringt; in diesem Fall ist es zu empfehlen, sie vor dem Gebrauch durch physiol. Kochsalzlösung zu verdünnen). Die Plastikkapillaren wurden dann in passende Glasröhrchen hineingeschoben und 5 min. bei 300 U/min. zentrifugiert. Durch Durchtrennung der Plastikkapillaren mit einer Rasierklinge wurden die abgesetzten, zusammengeballten Erythrocyten von dem leukocyten- und plättchenreichen Plasma-Dextran-Gemisch getrennt. Nach zweimaligem Waschen von je 10 Minuten bei 1500 U/min. und Dekantieren des Überstandes erhielten wir die plättchenfreie Leukocyten-suspension.

Die Einstellung erfolgte auf 7000 bis 9000 Leukocyten/ml. Von der so gewonnenen Leukocytensuspension wurden einmal 0,03 ml ohne Streptokinase und dann 0,015 ml mit 0,015 ml Streptokinase-lösung (5000 E/ml) auf die Fibrinplatten getropft.

- C. Die Bestimmung der fibrinolytischen Aktivitäten erfolgte auf Astrup-Lassen-Fibrinplatten (2) in einer Modifikation nach B. RAHN (47). Wir bestimmten mit der unerhitzten Standardplatte den Aktivator, auf der Standardplatte mit Streptokinase den Proaktivator, auf der erhitzten Platte das Plasmin (Fibrinolyse) und auf der erhitzten Platte mit Streptokinase das Plasminogen (Profibrinolyse) (2, 9, 47).

Herstellung der Platten:

Für die Herstellung der Astrup-Lassen-Platten benutzten wir eine 0,2%ige Fibrinogenlösung, wobei wir Rinderfibrinogen der Behring-Werke in 0,1 m Natrium-Veronal-Puffer gelöst verwandten. Das pH des Veronal-Puffers betrug pH = 7,8, Ionenstärke = 0,1.

Puffer:

338 ml einer 0,1 m HCl-Lösung und
66,2 ml einer 1,0 m Natriumchloridlösung und
257,8 ml H₂O werden zu 662 ml einer 0,1 m Natrium-Veronal-lösung (13,65 g Natrium-Veronal in 662 ml aqua bidest gelöst) gegeben, so daß ein Puffer mit einem pH von 7,8 und einer Ionenstärke von = 0,1 entsteht.

Die für die Fibrinplatten verwandten Petrischalen (Ø 9 cm) müssen peinlichst sauber sein, um jeder Möglichkeit der Lyse durch Bakterien entgegenzuwirken. Zu diesem Zwecke haben wir die Schalen für 24 Stunden in ein Bichromschwefelbad gelegt, danach mit Leitungswasser und aqua dest. gespült und im Trockenschrank 100 min lang bei 150° sterilisiert.

Der Plattenguß muß etwa wöchentlich erfolgen, da die Lösungsflüssigkeit mit der Zeit verdunstet, die Platten austrocknen und ihre Sensibilität allmählich abnimmt.

Hierbei werden für jede Platte 5 ml der 0,4%igen Fibrinogenlösung, 3,8 ml Pufferlösung und 1 ml 2%ige Calciumchloridlösung in ein Reagenzglas einpipettiert und mit 0,2 ml einer Thrombinlösung (Test-Thrombin der Behring-Werke, 25 E/ml in Puffer gelöst) versetzt. Danach erfolgt sofort der Plattenguß, solange die Lösung noch nicht geronnen ist. In der Platte selbst erfolgt erst die Gerinnung.

Durch einen Zusatz von CaCl₂ zu der Fibrinogenlösung verflüssigen sich die Fibrinplatten nicht, und es entsteht außerdem eine Opaleszenz, die ein besseres Ablesen der Lysehöfe ermöglicht.

Zur Erfassung der Proaktivatoraktivität auf der unerhitzten sowie der Plasminogenkomponente auf der erhitzten Platte werden Erythrocytenhämolysat und Leukocyten suspension mit Streptokinase versetzt. Wir haben hierbei die Streptokinaselösung (Streptase der Behring-Werke 5000 E/ml in physiologischer NaCl gelöst) zwischen durch immer wieder eingefroren, um sie in ihrer Aktivität zu erhalten. Das Mischungsverhältnis des Erythrocytenhämolysates und der Leukocyten suspension mit der Streptokinaselösung wählten wir 1:1.

Wir tropften 0,03 ml der Testlösung auf die Fibrinplatten und werteten die Durchmesser der Lysehöfe nach etwa zwanzigstündiger Inkubation der Platten bei 37° aus.

Messen der einzelnen Aktivitäten:

A k t i v a t o r :

0,3 ml der Testlösung wurden als Tropfen auf eine unerhitzte Fibrinplatte gesetzt und die Durchmesser der Lysehöfe nach zwanzigstündiger Inkubation der Platten ausgewertet.

P r o a k t i v a t o r :

Durch Zusatz von Streptokinase 5000 E/ml der Testlösung im Verhältnis 1:1 wird der Proaktivator auf der unerhitzten Platte bestimmt.

P l a s m i n :

Wie oben beschrieben werden wieder 0,03 ml als Tropfen auf die Fibrinplatten gesetzt, nur sind diese Platten vorher bei 80° 60 min. lang erhitzt worden, um den Rinderplasminogengehalt der Fibrinogenlösung zu inaktivieren. Die Auswertung erfolgt wie oben.

P l a s m i n o g e n :

Durch Zusatz von Streptokinase 5000 E/ml zu der Testlösung im Verhältnis 1:1 wird das Plasminogen in der Testlösung in Plasmin umgewandelt, so daß man jetzt bei der Auswertung der Lysehöfe die Plasminogenkomponente miterfaßt.

Auswertung der Lysehöfe:

Die Auswertung der Lysehöfe erfolgte nicht wie üblich (ASTRUP, MÜLLERTZ (2)) durch Multiplikation zweier Durchmesser eines Lysehofes und Interpolation der Ergebnisse an einer Standardkurve, da unserer Meinung nach die Fehlerquellen (pipettieren, zentrifugieren, ausmessen mit dem Stechzirkel usw.) auch im Quadrat zunehmen würden, sondern durch Ausmessen der 2 Durchmesser der Lysehöfe einer Testlösung und Errechnung des arithmetischen Mittels aus ihnen.

Ergebnisse:

A: Erythrocytenhämolysat

Fibrinolytische Untersuchungen mit Erythrocytenhämolysat führten wir bei 134 Kindern durch, außerdem verfolgten wir bei 10 Austauschtransfusionen nach jeweiliger Steigerung des ausgetauschten Blutes um 100 ml die Aktivitätsänderung.

Das Blut wurde aus der Kubitalvene, bei Säuglingen auch aus oberflächlichen Kopfvenen und bei der Austauschtransfusion mit dem Katheter aus der Nabelvene gewonnen. Das Nabelschnurblut wurde gleich nach Abbinden und Durchtrennung der Nabelschnur aus der Plazentaseite der Nabelschnur gewonnen.

Da die Größe der Lysehöfe des Erythrocytenhämolysates auf Astrup-Fibrinplatten bei leichter Veränderung der Versuchsanordnung schwankt und außerdem bis jetzt in der Literatur keine Normwerte existieren, war die Aufstellung eigener Vergleichswerte notwendig. Hierfür benutzten wir das Erythrocytenhämolysat von 25 gesunden Erwachsenen (Blutspender). Aus diesen Lysehöfen wurden folgende Mittelwerte und Streubreiten errechnet:

	Mittelwert	Streubereich
Aktivatoraktivität	10,62	17,43- 3,81
Proaktivatoraktivität	24,58	34,46-14,70
Plasminogengehalt	11,10	17,31- 4,89
Plasmingehalt	11,74	18,63- 4,85

Es sei hier erwähnt, daß wir bei der Aktivatoraktivität sowie bei dem Plasmin- und Plasminogengehalt mit vereinzelt Ausnahmen niemals eine vollständige Lyse erzeugen konnten, sondern nur eine Teil-Lyse. Die Zahlenwerte dieser Teil-Lysen sind in den folgenden Tabellen in Klammern angegeben.

Mit den angeführten Mittelwerten und Streubereichen verglichen wir die durch Hämolysate erzeugten Lysehöfe von 15 Kleinkindern, 21 Säuglingen verschiedenen Alters, 14 Neugeborenen und 16 Frühgeborenen sowie die Lysehöfe von 68 Nabelschnurbluthämolysaten.

Tab.1

Fibrinolytische Aktivität des Erythrozyten-Hämolysates
von Erwachsenen, gemessen in mm der Lysehöfe auf
Astrup-Lassen-Fibrin-Platten

Nr.	Unerhitzt		Erhitzt	
	ohne Streptokinase	mit Streptokinase	ohne Streptokinase	mit Streptokinase
1	(6,5)	24,5	6	5
2	(8)	18	(8,5)	(7)
3	(7)	19	7	5,5
4	(17,5)	34	(17,5)	(15)
5	(13)	21,5	(13)	(11,5)
6	(15,5)	28,5	(16)	(14)
7	(14)	28	(15,5)	(14)
8	(12)	26,5	(13,5)	(15)
9	(9)	22	(12,5)	(12,5)
10	(16)	36	(18)	(15)
11	(10)	17	(11,5)	(12,5)
12	(17)	26	(15)	(14)
13	(8)	24	(11)	(12)
14	(9,5)	18	(15)	(12)
15	7	26,5	7	7
16	8	28	8,5	8
17	(12)	23	(13,5)	(13,5)
18	(9)	21	(10)	(11)
19	(9)	22	(9,5)	(11)
20	(8)	21	(10)	(9)
21	(14)	30	(12)	(12)
22	(6)	29	(6)	6
23	(10)	28	(11)	(10)
24	(10)	24	(14)	(13)
25	(9)	19	(12)	(12)

() unvollständige Lyse

mit Streptokinase = 0,015 ml des Hämolysates wurden
mit 0,015 ml einer Streptokinaselösung (5000 E/ml)
gemischt und getestet.

Wir fanden bei den 25 Erwachsenen den höchsten Mittelwert der Proaktivator-Aktivität. Die Schwankung ist bei der Proaktivator-Aktivität im Gegensatz zum Aktivator, Plasminogen und Plasmingehalt beträchtlich (vgl. Abb. 2 u. Tab 5). In zwei Fällen war die Proaktivator-Aktivität extrem hoch (vgl. Tab.1, Nr. 4 u. 10). Nur in vier Fällen wurde auf der erhitzten Platte mit und ohne Streptokinasezusatz eine vollständige Lyse erzeugt (vgl. Tab. 1, Nr. 1, 3, 15, 16). In zwei Fällen war das Hämolysat auf der Standardplatte spontanlytisch (vgl. Tab. 1, Nr. 15 u. 16). Es ist bemerkenswert, daß die vollständigen Lysehöfe etwas kleiner als die Höfe der Teillyse sind.

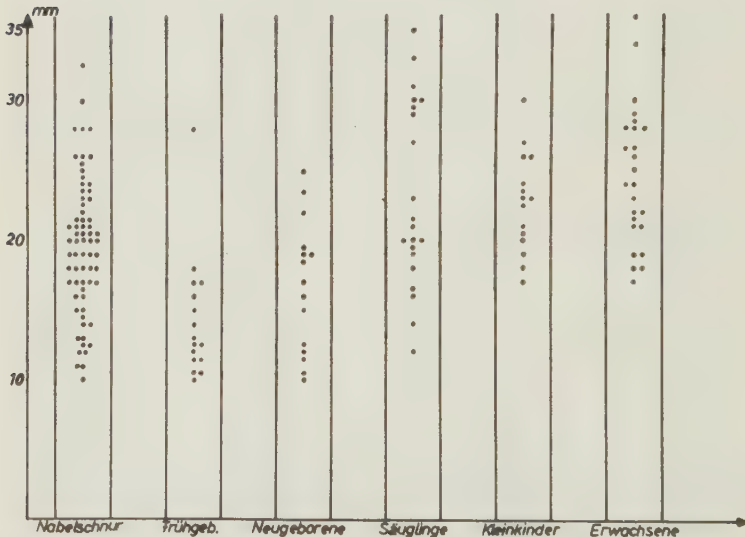


Abb.2 Vergleich der Proaktivator-Aktivität in verschiedenem Lebensalter, gemessen in mm der Lysehöfe. Ordinate: die in mm eingetragenen Lysehofgrößen wurden durch Ausmessung zweier Durchmesser und die hieraus errechneten arithmetischen Mittel gewonnen.

Fibrinolytische Aktivität des Erythrozyten-Hämolysates auf Astrup-Lassen-Fibrin-Platten, gemessen in mm der Lysehöfe

a) bei Säuglingen

Nr.	Alter	Unerhitzt		Erhitzt	
		Hämolysat ohne SK	Hämolysat mit SK	Hämolysat ohne SK	Hämolysat mit SK
1	11 T.	(6,5)	16,5	(12,5)	(12)
2	11 T.	(8,5)	35	9	11
3	11 T.	(8,5)	29,5	(11)	(15)
4	11 T.	(10)	33	(12)	(12,5)
5	11 T.	(8,5)	21,5	(11,5)	(11,5)
6	12 T.	(7,5)	16	(8)	(6)
7	14 T.	(5)	30	(6)	(5)
8	30 T.	(8,5)	18	(8)	(6)
9	40 T.	(6)	14	(8)	(6,5)
10	2 M.	(10)	20	(13,5)	(9)
11	2 M.	(9)	31	(9)	(15)
12	2 M.	(9)	30	8,5	11
13	2 M.	(8)	21	(13,5)	(13,5)
14	4 M.	(9)	29	(10,5)	(10,5)
15	5 M.	(7,5)	12	(11)	(7,5)
16	6 M.	(10)	27	(11)	(11,5)
17	6 M.	(9,5)	19	(10,5)	(14,5)
18	6 M.	(8)	19,5	(10)	(10,5)
19	6 M.	(7)	20	(8)	(7)
20	10 M.	(7,5)	20	(12,5)	(10)
21	10 M.	(10,5)	23	(15)	(15)
22		(7,5)	32	16,5	15

4 x Austausch-
transfusion

b) bei Kleinkindern

1	(7,5)	18,5	6,5	5,5
2	(11)	26,5	(12,5)	(8,5)
3	(8)	18	(9)	9,5
4	(10)	22,5	9,5	7
5	(12,5)	17	(13)	(12)
6	(8)	20,5	(10,5)	(11,5)
7	(7)	20	(15)	(10)
8	(7,5)	20	(12,5)	(10)
9	(9)	26	(13)	(13)
10	(8,5)	23,5	(13,5)	(11)
11	(7)	21	(10,5)	(9)
12	(8,5)	23	(9)	(11)
13	(9,5)	26	(10)	(12,5)
14	(8,5)	23	9	8
15	(8,5)	30	9,5	(10)

T Tage SK Streptokinase
M Monate () unvollständige Lyse

Hämolysat mit SK = 0,015 ml des Hämolysates wurden
mit 0,015 ml einer Streptokinaselösung (5000 E/ml)
gemischt und getestet

Tab.3

Fibrinolytische Aktivität des Erythrozyten-Hämolysates auf Astrup-Lassen-Fibrin-Platten, gemessen in mm der Lysehöfe

a) bei reifen Neugeborenen

Nr.	Lebenstag	Unerhitzt		Erhitzt	
		Hämolysat ohne SK	Hämolysat mit SK	Hämolysat ohne SK	Hämolysat mit SK
1	12 Stunden	(9,5)	19,5	(8,5)	(9,5)
2	1.	(9,5)	19	9,5	10
3	2.	(10)	11,5	(8,5)	(8,5)
4	2.	(7)	23,5	(8)	(9)
	9.	(9)	25	(11)	(12)
5	3.	(14)	10,5	(14)	(10)
6	3.	(10,5)	10	(13,5)	(11,5)
7	3.	(6,5)	22	(13)	(12,5)
8	3.	(12)	17	(14,5)	(15)
9	3.	(11)	12	(10,5)	(11,5)
10	4.	(9,5)	12,5	(10)	(10,5)
11	4.	(10)	16	(13)	(13,5)
	5.	(8)	23	7,5	9
12	4.	(8)	19	(10,5)	(13)
13	5.	(10,5)	18,5	(9,5)	(10)
14	7.	(8)	15	(9)	(9,5)

b) bei Frühgeborenen

1.	2.	(14)	10,5	(14)	(10)
2.	2.	(9)	13	(10)	(12,5)
3.	2.	(11)	14	(12)	(13)
	5.	(10,5)	17	(10,5)	(11)
4.	2.	(9)	17	(9,5)	(10)
5.	2.	(8,5)	12	(10,5)	(11)
6.	3.	(14)	11,5	(14,5)	(9,5)
7.	3.	(10,5)	10	(12,5)	(12,5)
8.	3.	(9)	10,5	(12,5)	(13)
9.	3.	(10)	12,5	(14,5)	(8)
10.	4.	(11)	16	(13)	(9,5)
11.	4.	(10)	11,5	(8,5)	(8,5)
12.	5.	(8,5)	15	(12)	(12)
13.	5.	(9,5)	28	(9)	(12)
14.	5.	(10)	15	(10)	(12)
15.	6.	(8,5)	18	(9)	(9)
16.	7.	(6)	17	(11)	(12,5)

SK Streptokinase () unvollständige Lyse

Hämolysat mit SK = 0,015 ml des Hämolysates wurden mit 0,015 ml einer Streptokinaselösung (5000 E/ml) gemischt und getestet.

Tab.4

Fibrinolytische Aktivität des Erythrozyten-Hämolysates
von Nabelschnurblut, gemessen in mm der Lysehöfe auf
Astrup-Lassen-Fibrin-Platten

Nr.	Unerhitzt		Erhitzt	
	ohne Streptokinase	mit Streptokinase	ohne Streptokinase	mit Streptokinase
1	(9,5)	24	(10,5)	(7,5)
2	(9,5)	20	(12)	(8)
3	(10,5)	17	(13)	(8,5)
4	(10,5)	23	(11)	(6)
5	(7)	15	(8)	(6,5)
6	(7)	13	(7,5)	(5,5)
7	(6,5)	21	(7,5)	(6,5)
8	(7,5)	16	(8,5)	(6,5)
9	(10)	11	(12,5)	(9)
10	(12,5)	16	(10,5)	(7)
11	(9)	24	(10)	(7)
12	(10)	23	(11)	(11)
13	(11)	23,5	(12)	(14,5)
14	(11)	12,5	(12)	(14)
15	(10)	11	(11)	(12)
16	(11,5)	24,5	(11,5)	(11,5)
17	(14,5)	18	(13,5)	(13,5)
18	(11,5)	28	(11)	(12)
19	(9)	12	(8,5)	(11)
20	(11,5)	21	(11,5)	(12)
21	(11)	18	(13)	(14)
22	(9,5)	20	(8,5)	(12,5)
23	(11,5)	15	(10,5)	(12,5)
24	(11)	20,5	(12)	(12)
25	(9)	13	(11,5)	(12,5)
26	(11)	20,5	(12)	(13,5)
27	(10)	32,5	(10,5)	(11,5)
28	(11)	16	(10)	(16)
29	(10)	20	(11,5)	(20)
30	(13,5)	25	(10)	(8,5)
31	(10,5)	21,5	10,5	11
32	(8,5)	21,5	(11)	(11)

() unvollständige Lyse

Tab.4

Nr.	Unerhitzt		Erhitzt	
	ohne Streptokinase	mit Streptokinase	ohne Streptokinase	mit Streptokinase
33	(9)	28	(12,5)	(14)
34	(9,5)	22	(9)	(13,5)
35	(8,5)	17	(12)	(15)
36	(9,5)	19	(12)	(15)
37	(9)	15	(11,5)	(15)
38	(9)	17	(12)	(15)
39	(8,5)	22,5	(12)	(14)
40	(8,5)	17	(12)	(16)
41	(9)	21	(12)	(14)
42	(9,5)	26	(11)	(13,5)
43	(5,5)	26	(12)	(12)
44	(6,5)	26	(14)	(14)
45	(8)	23,5	(11)	(11,5)
46	(9)	20	(10)	(11,5)
47	(7)	19	(10)	(10)
48	(8,5)	28	(11)	12
49	(13)	30	(10)	(12,5)
50	(7,5)	19	(11,5)	(10,5)
51	(9)	25,5	(11,5)	(15,5)
52	(9)	20	(10)	(11,5)
53	(9)	17	(9)	(11)
54	(10)	19	(9,5)	(11)
55	(11,5)	21	11	(14)
56	(8,5)	16,5	(9,5)	(11)
57	(7)	18	(7)	(8,5)
58	(7,5)	12	(9,5)	(12,5)
59	(7,5)	10	(9)	(11,5)
60	(7)	18	(9,5)	(14)
61	(7)	14	(6,5)	(6)
62	(5)	21,5	(6,5)	(5)
63	(5)	19	(8)	(9,5)
64	(5)	18	(8,5)	(8,5)
65	(10)	26	(12,5)	(11)
66	(8)	14,5	(9)	(9)
67	(7,5)	20,5	(8,5)	(11,5)
68	(9)	20,5	(9)	(9,5)

() unvollständige Lyse

Die Mittelwerte der 15 Kleinkinder weichen nur geringfügig von denen der Erwachsenen ab (vgl. Tab. 5). Der Unterschied ist nicht signifikant. Die errechneten Streubreiten sind für Proaktivator, Aktivator, Plasminogen und Plasmin geringer. Auf der unerhitzten Platte fanden wir ohne Streptokinase keine vollständige Spontanlyse. In fünf Fällen entstand auf der erhitzten Platte eine vollständige Lyse (vgl. Tab. 2, Nr. 1, 2, 3, 14 u. 15), wobei Nr. 1 und 2 mit Cortison und Nr. 2 außerdem noch mit Cytostatika behandelt worden war. Das Kind Nr. 14 hat Antibiotika, Nr. 3 und 15 haben keine nennenswerte medikamentöse Behandlung erhalten.

Bei den 21 ausgetragenen Säuglingen im Alter von 11 Tagen bis zu 10 Monaten lagen die Mittelwerte für Aktivator, Proaktivator, Plasmin und Plasminogen geringfügig unter denen der Erwachsenen, der Unterschied war aber nicht signifikant. Die größte Mittelwertstreuung für Proaktivator (36, 35-9, 83) fanden wir bei dieser Altersgruppe. Nur bei einem 11 Tage und einem 2 Monate alten Säugling fanden wir auf der erhitzten Platte mit und ohne Streptokinase eine vollständige Lyse (vgl. Tab. 2, Nr. 2 u. 12). Der größte Lysehof maß 35 mm, der kleinste 12 mm (vgl. Tab. Nr. 2 u. 9). Interessant ist, daß wir nach viermaliger Austauschtransfusion bei einem Kind extrem hohe Werte für Proaktivator, Plasminogen und Plasmin bei vollständigen Lysehöfen fanden (vgl. Tab. 2 Nr. 22).

Unsere Messungen bei 14 reifen, ein bis neun Tage alten Neugeborenen ergaben in der Tat eine deutliche und statistisch signifikante Verminderung der Mittelwerte für Proaktivatoraktivität. Die Werte für Aktivator und Plasmin lagen nicht signifikant unterhalb derjenigen von Erwachsenen, der Wert des Plasminogen etwa in derselben Höhe wie der Wert von Erwachsenen. Die Streubereiche waren ebenfalls kleiner. In einem einzigen Fall, bei einem einen Tag alten Neugeborenen, konnten wir eine vollständige Lyse auf der erhitzten Platte beobachten (vgl. Tab. 3, Nr. 2). Einen Tag nach einer bei einem Kind durchgeführten Austauschtransfusion konnten wir eine stark erhöhte Proaktivatoraktivität und eine vollkommene Lyse, die auf der erhitzten Platte vorher unvollständig war, feststellen (vgl. Tab. 3, Nr. 11).

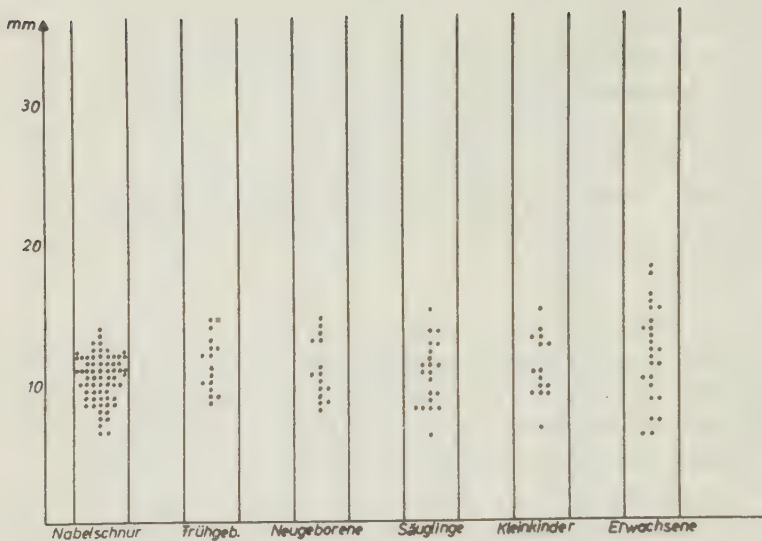


Abb.3 Vergleich der Plasminwirkung in verschiedenem Lebensalter, gemessen in mm der Lysehöfe.

Die Abweichungen von den Normwerten wurden von uns statistisch überprüft und der Unterschied zwischen zwei Mittelwerten als signifikant betrachtet, wenn die nach der Methode von FISHER und YATES (11) berechnete Wahrscheinlichkeit P kleiner als 0,05 war. Für den Proaktivator errechneten wir ein P 0,001. Hingegen waren die Abweichungen von Aktivator, Plasmin und Plasminogen für eine statistische Sicherung zu gering.

Bei Frühgeborenen lassen sich spezielle Eigenarten der Reifung und des Funktionswandels beobachten, die sich unter anderem in dem in verstärktem Maße vorkommenden hämolytischen Ikterus zeigen. Infolgedessen sollten weitere Untersuchungen darüber Auskunft geben, ob sich in den fibrinolytischen Aktivitäten des Hämolysates Veränderungen besonderer Art nachweisen ließen.

wie vermutet ergaben unsere Messungen an 16 Frühgeborenen ausgeprägte Abweichungen von denen der Erwachsenen.

Wir fanden hier für den Proaktivator die niedrigsten Mittelwerte und Schwankungsbreiten von allen Lebensaltern; bei der statistischen Nachrechnung ergab sich gegenüber Erwachsenen ein signifikanter Unterschied von $P = 0,001$, für Aktivator, Plasminogen und Plasmin dagegen nur eine geringfügige Erniedrigung. Nur bei einem fünf Tage alten Frühgeborenen zeigte sich eine sehr hohe Proaktivator-Aktivität (vgl. Tab. 3, Nr.13). Vollständige Lyse auf der erhitzten Platte mit und ohne Streptokinase und auf der unerhitzten Platte ohne Streptokinase konnten wir nicht beobachten (vgl. Tab. 3).

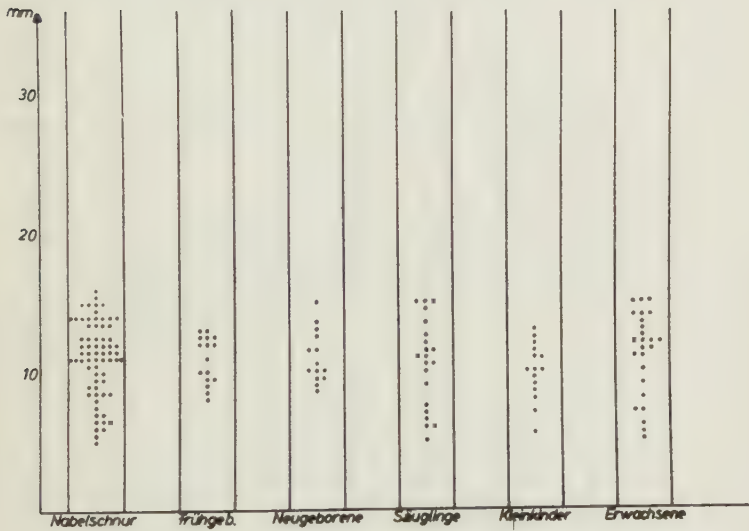


Abb.4 Vergleich der Plasminogenwirkung in verschiedenem Lebensalter, gemessen in mm der Lysehöfe.

Zum Schluß sei noch erwähnt, daß Streptokinase allein auf unerhitzten Platten durch Aktivierung des platteneigenen Plasminogen Lysehöfe bewirkte. Wir haben bei 0,015 ml im Durchschnitt einen Wert von 5 bis 6 mm gefunden. Auf der erhitzten Platte bewirkte Streptokinase allein niemals einen Lysehof.

Tab. 5

Fibrinolytische Aktivität des Erythrozyten-Hämolysates auf
Astrup-Lassen-Fibrin-Platten, gemessen in mm der Lysehöfe

Normmittelwerte $M \pm 2S$

Fall- zahl	Altersgruppen	U n e r h i t z t		E r h i t z t	
		Hämolysat ohne SK	Hämolysat mit SK	Hämolysat ohne SK	Hämolysat mit SK
25	Erwachsene	10,62 [±] 6,81 17,43- 3,81	24,58 [±] 9,88 34,46-14,70	11,74 [±] 6,89 18,63- 4,85	11,10 [±] 6,20 17,31- 4,89
15	Kleinkinder	8,73 [±] 3,10 11,83- 5,63	22,36 [±] 7,24 29,61-15,13	10,86 [±] 4,56 15,42- 6,30	9,15 [±] 4,54 13,69- 4,61
21	Säuglinge	8,28 [±] 2,85 11,14- 5,43	23,09 [±] 13,26 36,35- 9,83	10,43 [±] 4,57 15,00- 5,85	10,50 [±] 6,40 16,90- 4,10
14	Neugeborene	9,71 [±] 3,96 13,67- 5,75	16,14 [±] 8,72 24,86- 7,42	10,85 [±] 4,54 15,39- 6,31	11,00 [±] 3,83 14,83- 7,16
15	Frühgeborene	9,93 [±] 4,14 14,07- 5,79	13,56 [±] 5,27 18,84- 8,29	11,56 [±] 3,92 15,49- 7,64	10,86 [±] 3,48 14,34- 7,38
68	Nabelschnurblut	9,17 [±] 3,94 13,11- 5,23	19,76 [±] 9,71 29,47-10,05	10,49 [±] 3,40 13,89- 7,09	11,15 [±] 5,51 16,66- 5,64

Hämolysat mit SK = 0,015 ml des Hämolysates wurden mit 0,015 ml einer Streptokinase-
lösung (5000 E/ml) gemischt und getestet.

SK Streptokinase

Die fibrinolytische Aktivität des Erythrocytenhämolysates bei Austauschtransfusion.

Wir haben bei fünf Frühgeborenen und fünf reifen Säuglingen die fibrinolytische Veränderung des Erythrocytenhämolysates nach Erhöhung der ausgetauschten Blutmenge um jeweils 100 ml verfolgt. Erwartungsgemäß stieg die Proaktivatoraktivität deutlich an (vgl. Abb. 5). Die Ergebnisse nach 600 bzw. 700 ml sind wegen der geringen Fallzahl (3 bzw. 2 Kinder) nicht mehr voll verwertbar. Bei Aktivator, Plasminogen und Plasmingehalt konnten wir eine geringe Schwankung, jedoch keinen Anstieg beobachten. Somit unterstreichen unsere Ergebnisse die für den Proaktivator gefundene signifikante Erniedrigung bei Neu- und Frühgeborenen gegenüber Erwachsenen.

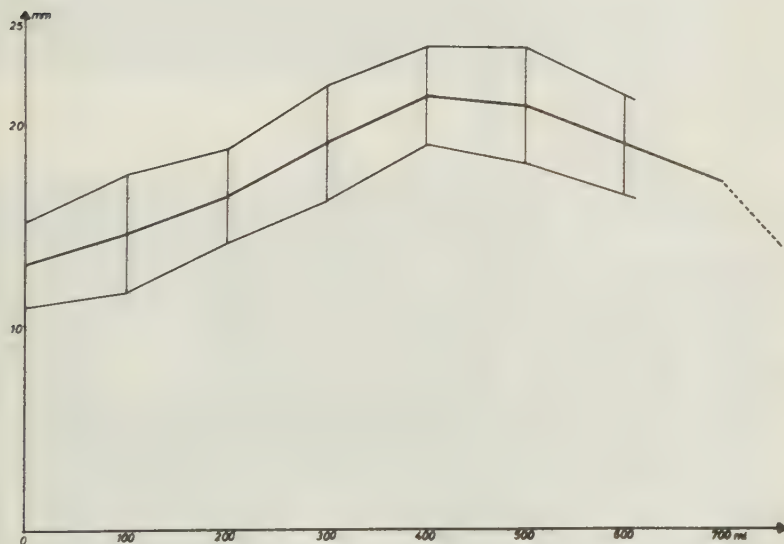


Abb.5 Proaktivator-Aktivität während der Austauschtransfusion gemessen in mm der Lysehöfe nach jeweils 100 ml. Ordinate: Lysehofgröße in mm, Abszisse: ausgetauschte Blutmenge. Dünne Linie oben und unten: durchschnittliche Abweichung. Gestrichelte Linie: Abfall der bei drei Kindern nach einem Tag untersuchten Proaktivator-Aktivität.

Tab.6

Fibrinolytische Aktivität des Erythrozyten-Hämolysates bei Austauschtransfusion, gemessen in mm der Lysehöfe auf Astrup-Lassen-Fibrin-Platten nach Steigerung der ausgetauschten Blutmenge um jeweils 100 ml

Aktivatorgehalt

Nr.	ml:	0	100	200	300	400	500	600	700	1 Tag
1	Neugeborene	21	12	17	18	19	19	17,5	12	17
2	"	10	10,5	10	10,5	9	9	9	8	
3	"	9,5	10	11	10,5	12	12	9,5		10
4	"	9,5	12	12,5	13	14	8			9,5
5	"	11	11	7,5	9	8,5	15			
6	Frühgeb.	14	18	17	15	17				
7	"	10,5	11	14	11	11				
8	"	9	13	7,5	8	8,5				
9	"	10	10	10	10,5	11				
10	"	8,5	11	11						

Proaktivator

1	Neugeborene	11,5	13	20	20,5	21	19,5	18	13,5	12
2	"	16	17	22	24	26,5	23	23	21	
3	"	19,5	19,5	19,5	18	20,5	19,5	16,5		14
4	"	12,5	14	15,5	26,5	27	27			16
5	"	12	20	18	17	21	16,5			
6	Frühgeb.	11,5	15	13	17	18,5				
7	"	10	12,5	20	18	22,5				
8	"	10,5	9,5	16	15	17,5				
9	"	12,5	15	15	17	20				
10	"	15	21	16,5						

Plasmin

1	Neugeborene	14	14	11,5	11	14	16	14,5	13,5	16
2	"	13	15	9	12	12,5	14	12	8,5	
3	"	8,5	12	12	11,5	12,5	10,5	12,5		10,5
4	"	10	13	13	14,5	16	11,5			11
5	"	10,5	11,5	10	10,5	12	15			
6	Frühgeb.	14,5	15	16,5	15	14,5				
7	"	12,5	10,5	13	12	11				
8	"	12,5	12,5	10,5	11,5	11,5				
9	"	14,5	12,5	11,5	11	11,5				
10	"	12	14	13						

Plasminogen

1	Neugeborene	7,5	10	10	11	11	11	10,5	9,5	11,5
2	"	13,5	14,5	10	12	16	16	14	10,5	
3	"	9,5	11	11,5	10,5	11,5	10,5	11		13,5
4	"	10,5	14	14	15	16	15			11,5
5	"	11,5	11,5	12,5	10,5	13,5	17			
6	Frühgeb.	9,5	10	11	11,5	10				
7	"	12,5	12	13	15	14,5				
8	"	13	13,5	11,5	10	11				
9	"	8	9,5	9,5	12	10				
10	"	12	14	15						

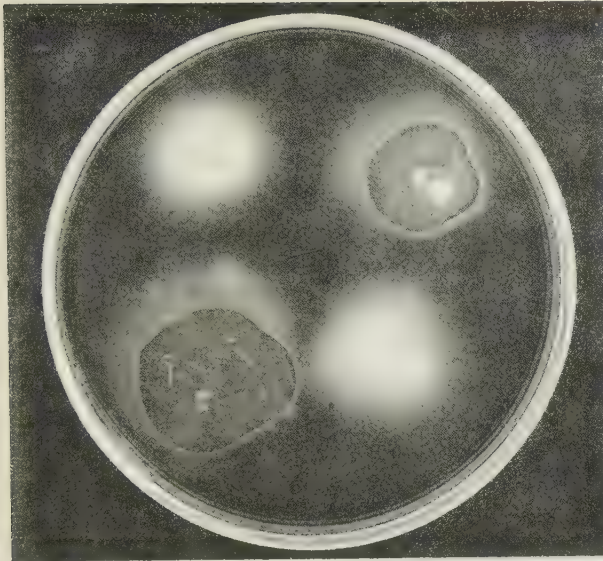


Abb. 6

Lysehöfe auf unerhitzter
Fibrinplatte

oben re. und unten li.:
vollständig, durch
streptokinaseaktiviertes
Erythrocytenhämolysat

oben li. und unten re.:
unvollständig, durch
Erythrocytenhämolysat

Mitte:
durch Streptokinase
bewirkter Lysehof

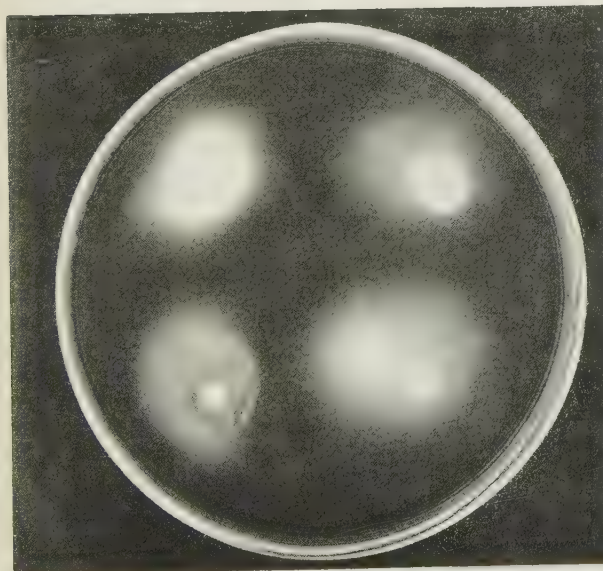


Abb. 7

Lysehöfe auf erhitzter
Fibrinplatte

oben re. und unten li.:
unvollständig, durch
streptokinaseaktiviertes
Erythrocytenhämolysat

oben li. und unten re.:
unvollständig, durch
Erythrocytenhämolysat

Mitte:
Die Streptokinase konnte
keinen Lysehof bewirken



Abb. 8

Lysehöfe auf unerhitzter Fibrinplatte

oben re. und unten li.: durch streptokinaseaktivierte Leukocyten-suspension

oben li. noch deutliche, unten re. keine Lysehöfe durch reine Leukocyten-suspension.



Abb. 9

Lysehöfe auf erhitzter Fibrinplatte

oben re. und unten li.: durch streptokinase-aktivierte Leukocyten-suspension

oben li. und unten re.: durch reine Leukocyten-suspension

Mitte:

Die Streptokinase konnte keinen Lysehof bewirken

B. Leukocyten suspension

Soweit wir die Literatur übersehen können, wurden die einzelnen fibrinolytischen Komponenten von Leukocyten bis jetzt noch nicht mit Fibrinplatten untersucht. Das mag an der Schwierigkeit der Isolierung von Leukocyten liegen.

Mit der von uns gewählten Methode untersuchten wir die Leukocyten aus dem Venenblut von 21 Erwachsenen, 15 Säuglingen und 10 Frühgeborenen sowie in 25 Fällen die Leukocyten von Nabelschnurblut, das wir aus der hiesigen Universitäts-Frauenklinik erhielten.

Wie bei der Hämolysatuntersuchung mußten wir wiederum einen eigenen Vergleichswert aufstellen. Zu diesem Zweck errechneten wir die Normmittelwerte und die Mittlere Abweichung bei den von uns untersuchten 21 Erwachsenen (gesunde Blutspender) und verglichen diese Werte mit denjenigen der Säuglinge, der Frühgeborenen und des Nabelschnurblutes:

	Mittelwert	Streubereich
Aktivator-Aktivität	5,33	7,57- 3,10
Proaktivator-Aktivität	32,21	36,42-28,00
Plasmingehalt	5,47	7,89- 3,05
Plasminogengehalt	6,05	8,00- 4,10

Die Schwankung der einzelnen Werte voneinander war so gering, daß wir es uns erlauben konnten, bei den vorhandenen Fallzahlen die mittlere Abweichung zu berücksichtigen.

Bei Betrachtung der Lysehofgröße auf den unerhitzten und erhitzten Platten (vgl. Tab. 9 u. Abb. 8 u. 9) wird ersichtlich, daß die Leukocyten bei allen Lebensaltern eine überraschend hohe Proaktivator-Aktivität haben.

Durch reine Streptokinase entstand - wie bei dem Erythrocyten-hämolysat schon beschrieben - auf der unerhitzten Platte ein Lysehof von 5 bis 6 mm, während auf der erhitzten Platte wiederum kein Lysehof beobachtet werden konnte. Reiner Puffer wirkte weder auf der unerhitzten noch auf der erhitzten Platte lytisch.

Tab.7

Fibrinolytische Aktivität der Leukozytensuspension auf Astrup-Lassen-Fibrin-Platten, gemessen in mm der Lysehöfe

a) bei Erwachsenen

Nr.	Unerhitzt		Erhitzt	
	ohne Streptokinase	mit Streptokinase	ohne Streptokinase	mit Streptokinase
1	(5)	31,5	(5)	5
2	(5)	30	(5)	5
3	(5)	30	5	6
4	(5)	32	5	5
5	(5)	35	(6)	6
6	(6)	35	(7)	6
7	(5)	32	5	6
8	(5)	33	(5)	6
9	(5)	36	(5)	6
10	(5)	29	5,5	6
11	(5)	32,5	5,5	6
12	(5)	30,5	5	6,5
13	(5)	32	5	5
14	10	28	5	6
15	(5)	34	6,5	6,5
16	6	32	6	6
17	(5)	33	10	10
18	(5)	34	5,5	6
19	(5)	33	5,5	5,5
20	5	30	6,5	6
21	(5)	34	5,5	5,5

b) bei Säuglingen

Alter				
1	2 T.	(5)	25	6
2	3 T.	(5)	28	(5)
3	5 T.	(5)	27	5,5
4	7 T.	(5)	25	5
5	14 T.	(5)	25	(5)
6	14 T.	(5)	28	(5)
7	14 T.	(5)	27,5	6
8	15 T.	(5)	30	(5)
9	20 T.	(5)	25	(5)
10	28 T.	(5)	29	(5)
11	42 T.	(5)	22	6
12	2 M.	(5)	28	7,5
13	5 M.	(5)	23	(5)
14	6 M.	(5)	32	(5)
15	10 M.	(5)		(5)

T Tage,

M Monate,

() unvollständige Lyse

Tab.8

Fibrinolytische Aktivität der Leukozytensuspension auf
Astrup-Lassen-Fibrin-Platten, gemessen in mm der Lysehöfe

a) von Nabelschnurblut

Nr.	Unerhitzt		Erhitzt	
	ohne Streptokinase	mit Streptokinase	ohne Streptokinase	mit Streptokinase
1	(5)	31	7,5	7,0
2	(5)	26	5	5
3	(5)	28	(5)	(5)
4	5	24	6	5,5
5	(6)	24	5	5
6	(6)	29	5	5
7	(5)	26	(5)	(5)
8	(5)	26	(5)	5
9	(5)	28	5	5
10	(5)	30	5	5
11	(5)	32	(5)	5
12	(5)	28	(5)	5
13	(5)	28	(5)	(5)
14	(5)	25	(5)	(5)
15	(5)	26	6,5	8
16	(5)	28	(5)	5
17	(5)	28	(5)	(5)
18	5	31	6	6
19	(5)	31	5	5
20	(5)	26	5	5
21	6	28,5	8	6,5
22	5	28	5,5	5,5
23	(5)	29	5	5
24	5	26	5	5
25	(5)	26	6,5	7,5

b) bei Frühgeborenen

				Gewicht g
1	(5)	26	(5)	1300
2	(5)	30	(5)	1700
3	(5)	28	(5)	2320
4	(6)	29	(5)	2370
5	(5)	28	6	1990
6	(5)	28	(5)	2610
7	(5)	28	(5)	2160
8	(5)	27	(5)	2210
9	(5)	28	(5)	1940
10	(5)	26	(5)	1830

Ohne Streptokinase konnten wir bei Säuglingen und Frühgeborenen auf der unerhitzten Platte in keinem Fall einen Lysehof beobachten, auf der erhitzten Platte war bei Frühgeborenen nur einmal, bei Säuglingen sechsmal ein Lysehof festzustellen. Für den Proaktivator errechneten wir ebenso wie bei Nabelschnurblut eine signifikante Erniedrigung gegenüber Erwachsenen. Bei Plasminogen fanden wir bei Säuglingen nur in wenigen Fällen eine Lyse im Gegensatz zu Erwachsenen, bei denen immer, und zu Nabelschnurblut, wo in der Mehrzahl der Fälle eine Lyse auftrat. Eine Abhängigkeit der Lyse vom Geburtsgewicht oder vom Lebens- tag haben wir bei Säuglingen und Frühgeborenen nicht aufdecken können (vgl. Tab. 7 u. 8).

Tab. 9

Fibrinolytische Aktivität der Leukozyten - Suspension auf
Astrup-Lassen-Fibrin-Platten, gemessen in mm der Lysehöfe

Normmittelwerte M ± 2S

Fall- zahl	Altersgruppen	U n e r h i t z t		E r h i t z t	
		ohne Streptokinase	mit Streptokinase	ohne Streptokinase	mit Streptokinase
21	Erwachsene	5,33 [±] 2,23 7,57- 3,10	32,21 [±] 2,11 36,42-28,00	5,47 [±] 2,42 7,89- 3,05	6,05 [±] 1,95 8,00- 4,10
15	Neugeborene u. Säuglinge	5,00 [±] 0 5,00- 5,00	26,96 [±] 5,53 32,48-21,44	5,33 [±] 1,43 6,76- 3,90	5,33 [±] 1,22 6,55- 4,11
10	Frühgeborene	5,10 [±] 0,66 5,76- 4,44	27,80 [±] 2,49 30,29-25,31	5,10 [±] 0,66 5,76- 4,44	5,10 [±] 0,66 5,76- 4,44
25	Nabelschnurblut	5,11 [±] 0,71 5,82- 4,40	27,68 [±] 4,37 32,05-23,31	5,44 [±] 1,69 7,13- 3,75	5,44 [±] 1,74 7,18- 3,70

mit Streptokinase = 0,015 ml der Leukozyten-Suspension wurden mit 0,015 ml einer
Streptokinaselösung (5000 E/ml) gemischt und getestet.

IV. Diskussion

A: Die fibrinolytische Aktivität des Erythrocytenhämolysates.

Die Erythrocyten besitzen, wie QUICK (45) bereits feststellte, eine starke Gerinnungsaktivität, nachweisbar durch einen hohen Prothrombinverbrauch. 1963 wies KÜNZER (28) erstmalig auch eine fibrinolytische Aktivität der roten Blutzellen nach. Wir können diesen Befund auf Grund unserer Versuche bestätigen. Bei allen Lebensaltern fanden wir ein hohes fibrinolytisches Potential. Dieses war bei Erwachsenen am höchsten. Bei Frühgeborenen, reifen Neugeborenen und im Nabelschnurblut war es signifikant niedriger, wobei die Werte im Nabelschnurblut deutlich höher waren als die im Venenblut Neugeborener. Bei Säuglingen war eine sehr starke Schwankung der fibrinolytischen Aktivität festzustellen. Die niedrigsten Werte konnten wir bei Frühgeborenen verzeichnen. Darüberhinaus konnten wir auf der unerhitzten Platte ohne Streptokinase und auf der erhitzten Platte mit und ohne Streptokinase in allen Lebensaltern eine weitgehende Hemmung feststellen, die sich in der Mehrzahl der Fälle durch eine unvollständige Lyse äußerte.

KÜNZER (28) beobachtete, daß menschliche Erythrocyten und ein Teil der Tier-Erythrocyten mit und ohne Streptokinase auch auf erhitzten Fibrinplatten zur Fibrinolyse führen. Weiterhin stellte er fest, daß die stärkste fibrinolytische Wirkung bei 6g% Hb liegt, während oberhalb von 12g% Hb eine weitgehende Hemmung auftritt. Bei weiteren Differenzierungen fand er, daß stromatafreie Hämolysate und intakte Erythrocyten auf unerhitzten wie auf erhitzten Platten zu keinerlei Lyseerscheinungen führen. Stromatareiche Hämolysate zeigen dagegen starke fibrinolytische Eigenschaften. Es besteht daher Anlaß anzunehmen, daß die fibrinolytische Aktivität an Stromata lokalisiert ist.

Wir können für die scheinbar bestehenden Gegensätze folgende Erklärung angeben:

Bei reinem Hämolysat konnten wir keinen vollständigen Lysehof erhalten, weil unser Hämolysat auf 14g% Hb eingestellt war. Die unterschiedlichen Ergebnisse auf der erhitzten Platte mit Streptokinase können wir auf die unterschiedliche Erhitzungszeit der Fibrinplatten zurückführen, da sich auch dann deutliche Lysehöfe ergaben, wenn wir wie KÜNZER unsere

Platten 30' bei 85° C - anstatt wie sonst 60' bei 85° C - erhitzten (Näheres bei Diskussion der Methoden).

Wir verfolgten darüberhinaus die fibrinolytischen Aktivitätsveränderungen der Erythrocyten während der Austauschtransfusion. Dabei nimmt die fibrinolytische Aktivität bei Steigerung der ausgetauschten Blutmenge zu. Die Werte der Erwachsenen werden jedoch nicht überschritten. Die Untersuchungen am nächsten Tag zeigten, daß die fibrinolytische Aktivität fast wieder auf den Ausgangswert gesunken war. Hieraus schließen wir, daß das fibrinolytische Ferment nicht fest an die Zellstruktur gebunden ist.

Auf Grund unserer Befunde läßt sich sagen, daß das menschliche Erythrocytenhämolysat in der Mehrzahl der Fälle ebenso wie das menschliche Plasma nach Auftragen auf die Fibrinplatte nicht spontanfibrinolytisch wirkt.

B. Die fibrinolytische Aktivität der Leukocyten suspension

BAYERLE und KIRSTEIN (3) wiesen auf die fibrinolysehemmende Eigenschaft der Leukocyten hin. Hingegen zeigte DEUTSCH (24), daß ein Aktivator in vitro entsteht, wenn man leukocytenhaltiges Plasma mit Pyrogen inkubiert, während dies bei Inkubation mit leukocytenfreiem Plasma nicht der Fall ist. Er sah die Leukocyten als Quelle des Aktivators an. In gleicher Richtung weist die Ansicht von GROSS (15), der angibt, daß innerhalb des Blutes besonders die Leukocyten Lysokinasen besitzen. Die am eingehendsten durchgeführten Nachforschungen von JÜRGENS (24), der nach der Casein-Methode Plasma und auch Leukocyten von leukämischen Patienten untersuchte, deuteten regelmäßig auf eine Aktivierung des fibrinolytischen Systems im Plasma hin.

An isolierten Leukocyten zeigte er, daß diese große Mengen des Plasminogen-(Pro)Aktivators enthalten. Er stellte weiterhin fest, daß 6000 Leukocyten pro cmm etwa die gleiche (Pro-)Aktivatoraktivität wie das Plasma besitzen, während eine gleiche Menge Leukocytenvolumen andererseits gegenüber Plasma das 1300-fache an Aktivität ergibt. Der Gehalt von Leukocyten an freiem Plasminferment ist gegenüber dem Gehalt an (Pro-)Aktivator so gering, daß er ihn nicht berücksichtigte. Die schweren Blutungen bei Leu-

kosen führte JÜRGENS zum Teil auf eine Aktivierung des fibrinolytischen Systems durch die Leukocyten zurück.

Wir haben erstmalig mit der Fibrinplattenmethode einen hohen Proaktivatorgehalt der Leukocyten, der nur geringfügig unter demjenigen des Plasmas liegt, nachweisen können, wie dies aus den Abbildungen 7 und 8 ersichtlich ist. Im Nabelschnurblut sowie bei Frühgeborenen und Säuglingen lagen die Werte wenig, aber statistisch signifikant unter denjenigen der Erwachsenen. Die Werte für Plasminogen und Plasmin waren überzeugend niedriger als die des Proaktivators, wobei im Nabelschnurblut eine noch deutliche, bei Frühgeborenen und Säuglingen eine kaum nachweisbare Aktivität aufzuzeichnen war. Eine Aktivatoraktivität konnten wir bei allen Lebensaltern nur vereinzelt finden.

Bei der Beschreibung unserer Methode für Leukocytenisolierung erwähnten wir schon, daß Spuren von Erythrocyten in der Suspension nicht vermieden werden können. Im Durchschnitt fanden wir ebenso viele Erythrocyten wie Leukocyten. Wir haben daher die reinen, gewaschenen Erythrocyten auf die gleiche Dichte von 8000 Zellen pro cmm eingestellt und sie auf den Fibrinplatten untersucht. Es zeigte sich eine so geringfügige Proaktivatoraktivität, daß diese vernachlässigt werden konnte. Für Aktivator, Plasminogen und Plasmin haben wir keine Wirkung feststellen können.

Es ist noch bemerkenswert, daß bei der Waschung unserer Leukocyten suspension mit physiologischer NaCl-Lösung die Proaktivatoraktivität abnahm, jedoch nach fünfmaligem Waschen noch deutlich vorhanden war. Das Plasminogen dagegen blieb unverändert.

Es sei hier noch kurz die fibrinolytische Aktivität der Thrombocyten, die den dritten morphologischen Bestandteil des Blutes darstellen, wegen ihrer zum Teil sehr ähnlichen Eigenschaften behandelt.

R. GROSS (13, 14, 20) erkannte bei seinen Untersuchungen an Blutplättchen außer einer antifibrinolytischen Aktivität eine starke Proaktivator-Aktivität. Der Proaktivator zeigte sich hitzelabil und war durch Waschen graduell, aber nicht vollständig zu entfernen. Nach Ansicht des Autors wurde er möglicherweise aus dem Plasma adsorbiert. Mit Steigerung der Plättchenzahl konnte er eine progressive Proaktivator-Aktivität feststellen. Auf der erhitzten Platte fand er keine Lyse.

Wir neigen zu der Annahme, daß die Blutzellen eine Art Reservoir für die Vorstufen des fibrinolytischen Systems darstellen. Dafür spricht die Möglichkeit, den Proaktivator - wenn auch nicht vollkommen - aus Leukocyten auszuwaschen, wie unsere Versuche ergaben; auch R.GROSS gelang dies aus Thrombocyten. Die bei Erythrocyten während der Austauschtransfusion beobachtete starke Aktivitätssteigerung und ihr anschließender deutlicher Rückgang sowie die Parallelität der Abnahme bzw. die niedrige Menge von fibrinolytischen Vorstufen im Plasma und bei Erythrocyten von Neugeborenen unterstreichen noch diese Annahme.

Die von KUNZER (28) gefundene Lokalisation von fibrinolytischen Komponenten an die Zellmembrane der Erythrocyten besagt noch nichts darüber, ob diese Komponenten fest oder lose gebunden sind. Wenn die fibrinolytische Aktivität der roten Blutzellen eine zellständige Eigenschaft wäre, dann müßten wir annehmen, daß die gefundene signifikante Erniedrigung auf einer Besonderheit der fötalen Erythrocyten beruht.

C. Kritische Betrachtungen zu den Methoden.

Bis heute gibt es keine Methode zur exakten quantitativen Erfassung der einzelnen fibrinolytischen Komponenten. Bei den meisten Methoden arbeitet man - wie es auch mit der Fibrinplatte geschieht - auf Grund von Vergleichswerten, d. h. halbquantitativ.

Die meisten Bestimmungsmethoden benutzen Fibrin, Casein, Gelatine oder synthetische Ester als Substrat. Mit Casein als Substrat bestimmt man vorwiegend die proteolytische Aktivität, also die Plasminkonzentration einer Testlösung. Diese Methode eignet sich jedoch nur für die Charakterisierung gereinigter Systeme, da in diesem Test Inhibitoren stark zur Geltung kommen (57). Ein weiteres Verfahren ist die Bestimmung der Euglobulin-Fibrinolyse. Die in einen neutralen Puffer aufgenommene Euglobulin-fällung aus menschlichem Plasma ist so gut wie frei von den Inhibitoren.

Die Bestimmungsmethoden, bei denen Fibrin verwendet wird, haben die größte Bedeutung, da sie den physiologischen Verhältnissen weitgehend gerecht werden. Bei Versuchen mit Fibrinplatten bestehen neben dem Nachteil, daß eine vollkommene Reinigung des Fibrinogens und Thrombins von Begleitstoffen, vor allen Dingen mit Aktivatorwirkung, bisher nicht möglich ist, Einwände gegen die Verwendung von Rinderfibrinogen. Für klinische Untersuchungen dürfte das Fibrin des Patienten selbst am geeignetsten sein,

da mit der Verwendung von fremdem bzw. gereinigtem Fibrin unbekannte Faktoren in das Testsystem hineinkommen (57). Ein weiterer Mangel ist die fortlaufende Verdünnung der aufgebrauchten Fermentlösung durch die aus dem gelösten Fibringerinnel freierwerdende Flüssigkeit; das Verhältnis Ferment:Fibrinoberfläche ist kontinuierlichen Veränderungen unterworfen.

Äußerst wichtig für die Plasminogen- bzw. Plasminbestimmung der Testlösung ist die von verschiedenen Autoren verschieden gewählte Erhitzungszeit der Platten. DEUTSCH (9) erhitzte die Platten 90 Min. bei 85 bis 90° C, weil nur dann mit Sicherheit das gesamte Plasminogen zerstört wurde. Wir konnten wie R. GROSS (13) und RAHN (47) nach einer Erhitzung von 60 Min. bei 80° C eine vollständige Zerstörung des platteneigenen Plasminogens feststellen. Die nur 30 Min. dauernde Erhitzung bei KÜNZER (28) ist unserer Ansicht nach jedoch zu kurz, da wir nach einer Erhitzung von 30 Min. durch reine Streptokinase noch einen Lysehof erzeugen konnten und durch Testlösung mit Streptokinase einen fast ebenso großen Lysehof wie auf der unerhitzten Platte erhielten, was auf das Vorhandensein von unzerstörtem Plasminogen hinweist.

Andererseits kommt es, wie LASSEN (35) beschrieben hat, durch zu langes Erhitzen zur Veränderung der Fibrinstruktur. Ein Plasminpräparat, das mit Sicherheit keinen der bekannten Aktivatoren enthält, zeigt auf Standard- und erhitzten Fibrinplatten eine hohe Aktivität trotz längerer Erhitzungszeit (8).

Dagegen ist es unseres Erachtens nicht so entscheidend, ob man, um das Verdunsten zu verhindern, wie JÜRGENS (24) die Platten während des Erhitzens mit Leukoplast zuklebt oder wie RAHN (47) die Deckel abhebt. Wir haben die Deckplatte dekantiert, um dadurch eine Ansammlung von Tautropfen und die Zerstörung des Plattengusses durch Heruntertropfen zu verhindern. Die Verdunstung findet in beiden Fällen statt.

Aus der Literatur ersehen wir, daß es nach Ansicht mehrerer Autoren mit geringen Streptokinasedosen zu einem optimalen Effekt kommt, der mit größeren Gaben nicht zu steigern ist (16), während mit weiterer Erhöhung der Streptokinasemenge die fibrinolytische Aktivität überraschenderweise abnimmt (25). BERGHOF (5) beobachtete an Versuchen mit Globulinfraktion bei starker Erhöhung der Streptokinasedosis eine 20%-ige Hemmung.

SCHMIDT (51) stellte dagegen bei ansteigender Streptokinase-dosierung eine zunehmende Fibrinolyse fest. Die Diskrepanz zwischen diesen Ergebnissen dürfte nach SCHMIDT am ehesten an dem Unterschied zwischen äußerer und innerer Lyse liegen. Er konnte bei der äußeren Lyse mit zunehmender Streptokinase-dosierung eine progressive Fibrinolyse feststellen. Die Verhältnisse bei unseren Versuchen auf Fibrinplatten entsprachen mehr einer äußeren Lyse, wenn auch die Diffusion der Testlösung in das Fibrin nicht außer acht gelassen werden darf. Die von verschiedenen Autoren verwendeten Streptokinasekonzentrationen schwankten meistens zwischen 3000 und 8000 E/ml. Wir wählten eine Konzentration von 5000 E/ml. Bei stärkerer Konzentration konnten wir eine verstärkte Lyse beobachten.

Auch in Bezug auf die Lagerungsstabilität der Testlösung bestehen verschiedene Meinungen. BERGHOFF (6) bemerkte, daß im Citratplasma eigentümlicherweise eine Aktivitätsminderung auftritt, die bei Anwendung von Euglobulinfraktion bei -25°C selbst nach 8 Wochen nicht zu verzeichnen ist. Außerdem stellte er fest, daß das Plasminogen bei $+4^{\circ}\text{C}$ nicht lagerungsstabil ist. Nach KÜNZER (28) zeigen sich selbst nach 6 Tagen bei $+4^{\circ}\text{C}$ keinerlei Veränderungen der fibrinolytischen Aktivität. Bei unseren Versuchen veränderte sich der Proaktivatorgehalt im Tiefkühlfach innerhalb einer Wochenicht. Über Plasmin bzw. Plasminogen können wir wegen der schon erwähnten Hemmung nichts aussagen. Die Leukocyten mußten wir immer sofort verarbeiten, weil schon nach einem Tag eine eitrige Zusammenklumpung eintrat, die eine exakte Verarbeitung unmöglich machte.

D. Beziehungen zwischen Gerinnungsfaktoren und fibrinolytischen Komponenten im Nabelschnurblut und in der Neugeborenenperiode.

Es bestehen im Nabelschnurblut und im Blut von Neugeborenen häufig besondere Verhältnisse, insbesondere was die Gerinnungsfaktoren und die fibrinolytischen Komponenten betrifft. Es ist jedoch unzulässig, die Werte der Gerinnungsfaktoren und der fibrinolytischen Aktivität im Nabelvenenblut zur Beurteilung der Werte von Neugeborenen heranzuziehen.

Die meisten Untersuchungen beschäftigen sich mit der Gesamtbestimmung der Fibrinolyse. Über die Aktivität ihrer Einzel-faktoren ist noch wenig bekannt. Außerdem besteht oft Unklarheit über den Gebrauch der Nomenklatur - sowohl bei der Bestimmung von Plasmin als auch bei der Bestimmung des Proaktivator-Plasminogens spricht man im allgemeinen von fibrinolytischer Aktivität.

Die fibrinolytische Aktivität im Nabelvenenblut wurde im allgemeinen erhöht gefunden (4, 32, 44, 55). Darüberhinaus wiesen die meisten Autoren (4, 32, 34, 55, 59) gleichzeitig eine Verminderung des Proaktivator-Plasminogens nach.

Für die trotz Plasminogenverminderung verstärkte Fibrinolyse, die KÜNZER (32) und BELLER (4) im Nabelschnurblut fanden, gibt BELLER folgende Erklärung:

Die Fibrinokinase tritt vermehrt aus der Plazenta in den kindlichen Kreislauf über und erzwingt damit gewissermaßen die verstärkte Lyse, obwohl das Plasminogen vermindert ist.

Unseres Erachtens erfolgt möglicherweise durch die geburtsbedingte Stress-Situation, durch eine Aktivierung der körpereigenen Lysokinase und reaktiv auf den Fibrinokinaseeinbruch eine Aktivierung des fibrinolytischen Systems. Dies aber bewirkt gleichzeitig einen Verbrauch der Vorstufen. Es sei hier an die therapeutische Fibrinolyse mit Streptokinase erinnert, bei der es durch Aktivierung des fibrinolytischen Potentials zu einer Plasminogenschöpfung kommt. Der Verminderung der Gerinnungsfaktoren könnte eine ähnliche Situation zugrunde liegen.

In der Neugeborenenperiode war eine gesteigerte Fibrinolyse nicht mehr festzustellen (7, 33, 48). BELLER (4) allerdings beobachtete noch in den ersten 3 Tagen eine vermehrte fibrinolytische Aktivität. Das Proaktivator-Plasminogen fanden die Autoren übereinstimmend während der Neugeborenenperiode im Plasma erniedrigt (u.a. 4, 29, 33, 46, 48). Die niedrigsten Werte wiesen unreife Neugeborene auf (29, 46).

KÜNZER und STRÖDER (30) untersuchten Blutplasma von Säuglingen und konnten im ersten Trimenon eine Erniedrigung des Plasminogengehaltes gegenüber Erwachsenen feststellen. LANDBECK (33) sah bis zur 6. Lebenswoche, QUIE (46) bis zum 6. Lebensmonat eine deutlich verminderte Plasminogen-Aktivität. OEHME (41) berichtet über eine erniedrigte Plasminogen- (Profibrinolysin-) Aktivität im Säuglings- und Kindesalter. RAHN, V. (48) wies eine erniedrigte Aktivatoraktivität im Säuglingsalter nach.

Unsere Versuche bei Blutzellen ergaben einen ähnlichen Befund: Die fibrinolytische Aktivität war gegenüber Erwachsenen in keinem Lebensalter vermehrt. Die Proaktivator-Plasminogen-Komponente fanden wir bei Frühgeborenen am niedrigsten, bei Reifgeborenen noch immer signifikant niedriger als bei Erwachsenen.

Es besteht keine übereinstimmende Meinung darüber, ob die Inhibitoren des fibrinolytischen Systems vermindert sind oder nicht. TOWNSEND (59) und KÜNZER (29) fanden ein erhöhtes Antifibrinolysin, andere Autoren beobachteten eine Verminderung der Inhibitoren des fibrinolytischen Systems (41, 44, 46, 49).

Die Gerinnungsfaktoren wurden im Nabelschnurblut ebenso wie in der Neugeborenenperiode erniedrigt gefunden (4, 21, 27, 55); die bei der Geburt verminderten Werte sinken bei Früh- und Reifgeborenen in den ersten 3 - 4 Lebenstagen meist noch weiter ab (OEHME, 42). Trotz dieser Verminderung der Gerinnungsfaktoren sahen einige Autoren (4, 27) bei Nabelschnurblut und bei Neugeborenen in den ersten Tagen eine Hypercoagulabilität. MENKING (40) und RAHN, V. (48) konnten diese bei Früh- und Reifgeborenen nicht bestätigen.

Es verdient besondere Beachtung, daß wir nicht nur im Ablauf von Blutgerinnung und Fibrinolyse (Abb. 1), sondern auch in der Veränderlichkeit ihrer Einzelkomponenten eine Parallelität feststellen können.

V. Zusammenfassung

Wir untersuchten die fibrinolytische Aktivität von roten und weißen Blutzellen bei Kindern verschiedenen Alters, insbesondere bei Neugeborenen auf der Astrup-Lassen Fibrinplatte. Dabei ergaben sich keine vom Geburtsgewicht abhängigen Befunde.

1. Erythrocyten

Untersucht wurde das Erythrocytenhämolysat aus 68 Nabelschnurblutproben sowie bei 65 Kindern verschiedenen Alters und 25 Erwachsenen. Die fibrinolytische Aktivität des Erythrocytenhämolysats zeigte bei den Nabelschnurblutproben sowie bei Frühgeborenen (n=15), reifen Neugeborenen (n=14), Säuglingen (n=21) und Kleinkindern (n=15) sowie, im Gegensatz zum Schrifttum, bei Erwachsenen unvollständige Lysehöfe und nahezu gleiche Aktivitätsgrade für die A k t i v a t o r aktivität, gemessen an den Lysehöfen auf unerhitzten Fibrinplatten, für den P l a s m i n - gehalt, gemessen auf den erhitzten Fibrinplatten und für den P l a s m i n o g e n gehalt, gemessen auf den erhitzten Platten, wobei der Testlösung Streptokinase zugesetzt wurde.

Für die P r o a k t i v a t o r - Aktivität dagegen, gemessen an den Lysehöfen auf unerhitzten Platten durch Zusatz von Streptokinase zur Testlösung, fanden wir im Nabelschnurhämolysat sowie bei reifen und unreifen Neugeborenen eine statistisch signifikante Erniedrigung gegenüber den Werten Erwachsener. In Übereinstimmung mit diesem Befund stieg die Proaktivatoraktivität im Verlauf von Austauschtransfusionen an, wie wir durch Prüfung der Aktivität nach jeweils 100 ccm ausgetauschten Blutes bei 10 Säuglingen feststellen konnten.

2. Leukocyten

Die fibrinolytische Aktivität der Leukocyten suspension wurde an 25 Nabelschnurblutproben sowie bei 25 Kindern verschiedenen Alters und 21 Erwachsenen bestimmt. Vergleichsuntersuchungen mit der Fibrinplattenmethode liegen im Schrifttum nicht vor.

Sowohl bei den Erwachsenen wie bei den 10 Frühgeborenen und 15 Säuglingen fanden wir einen überraschend hohen P r o - a k t i v a t o r gehalt der Leukocyten. Darüberhinaus lagen die Mittelwerte der Erwachsenen statistisch signifikant höher als bei Kindern. Innerhalb des Kindesalters ergaben sich keine wesentlichen Differenzen.

Eine A k t i v a t o r aktivität konnten wir in allen Lebensaltern nur vereinzelt finden. P l a s m i n o g e n und P l a s m i n zeigten bei Erwachsenen immer, bei Nabelschnurblut in der Mehrzahl der Fälle deutliche Lysehöfe; dagegen konnten wir in der Leukocyten suspension von Säuglingen und Frühgeborenen nur selten diese Aktivitäten nachweisen.

Unsere Untersuchungen zeigen, daß die inaktiven Vorstufen des fibrinolytischen Systems in den menschlichen Blutzellen reichlich enthalten sind. Auffällig ist der erstmalig mit der Fibrinplattenmethode nachgewiesene hohe P r o a k t i v a t o r - gehalt der roten und insbesondere der weißen Blutzellen. In den Blutzellen des Nabelschnurblutes sowie bei reifen und unreifen Neugeborenen findet sich eine geringe, aber statistisch signifikante Erniedrigung der Proaktivatoraktivität gegenüber den Normwerten Erwachsener.

Literaturverzeichnis

1. Alkjaersig, N.; Fletcher, A.P.; Sherry, S.: The Mechanism of Clot Dissolution by Plasmin. J.Clin.Invest 38:1086 (1959).
2. Astrup, T.; Müllertz, S.: The Fibrin Plate Method for Estimating Fibrinolytic Activity. Arch. Biochem. 40:346 (1952).
3. Bayerle, H.; Kirstein, G.: Über Fermenteffektoren der Fibrinolyse. Klin.Wschr. 30:352 (1952).
4. Beller, F.K.: Die Gerinnungsverhältnisse bei Schwangeren und beim Neugeborenen. Johann Ambrosius Barth-Verlag, Leipzig 1957.
5. Berghoff, A.; Glatzel, H.: Experimentelle Beiträge zur Bestimmung der Leistungsfähigkeit gerinnungsphysiologischer Untersuchungsmethoden, III. Aktivierung des profibrinolytischen Systems durch zwei verschiedene Streptokinase-Präparate und Lagerungsstabilität seiner Komponenten. Throm. Diath. haem. 9:436 (1963).
6. Berghoff, A.; Glatzel, H.: Experimentelle Beiträge zur Bestimmung der Leistungsfähigkeit gerinnungsphysiologischer Untersuchungsmethoden, II. Plasminogen. Methodische und interindividuelle Streuung. T.D.h. 9:189 (1963).
7. Berglund, G.: The Fibrinolytic Activity in the Newborn. Acta paediatr. 47:511 (1958).
8. Deutsch, E.: Zum Thema Fibrinolyse. Schweiz.Med.Wschr. 44:1252 (1960).
9. Deutsch, E.; Fischer, M.: Die Wirkung intravenös applizierter Streptokinase auf Fibrinolyse und Blutgerinnung. Throm.Diath.haem. 4:482 (1960).
10. Egli, H.: Zur Physiologie der Blutgerinnung. Dtsch.Med.Wschr. 84:2290 (1959).
11. Fischer, R.A.; Yates, Fr.: Wissenschaftliche Tabellen Geigy (1956).

12. Glas, P.; Beller, F.K.: Inhibition of Clotting as the Result of Plasminogen Activation. *Thromb.Diath.haem.* 4:606 (1960).
13. Gross, R.; Holemans, R.: Differenzierung des Einflusses der Blutplättchen auf die Fibrinolyse. *Klin.Wschr.* 38:999 (1960).
14. Gross, R.; Lechler, E.: Weitere Untersuchungen über den Plättchen-Proaktivator der Fibrinolyse. *Klin.Wschr.* 818:40 (1962).
15. Gross, R.: Einige klinische Aspekte von Fibrinolyse und Thrombolyse. *Behringwerk-Mitteilungen* 41:68 (1962).
16. Halse, Th.: Streptokinase, Wirkungsmechanismus und Möglichkeiten einer klinischen Anwendung. *Klin.Wschr.* 23/29:406 (1951).
17. Haupt, H.: Untersuchungen über die Ursachen der Blutungskrankheiten des Neugeborenen. *Münch.med.Wschr.* 2030 (1962).
18. Heimbürger, N.: Neuere Erkenntnisse über den Mechanismus der Fibrinolyse unter besonderer Berücksichtigung der Fibrinagar-Elektrophorese. *Behringwerk-Mitteilungen* 41:84 (1962).
19. Heimbürger, N.; Schwick, G.: Die Fibrinagar-Elektrophorese, Untersuchungen zum Wirkungsmechanismus der Streptokinase. *Thromb.Diath.haem.* 7:445 (1962).
20. Holemans, R.; Gross, R.: Influence of Blood Platelets on Fibrinolysis. *Thromb.Diath.haem.* 6:196 (1961).
21. Hrodek, O.: On the Development of Coagulation Factors in Early Neonatal Life. *Ann.paediat.* 192:129 (1959).
22. Jürgens, J.: Die klinische Bedeutung fibrinolytischer Vorgänge. *Dtsch.med.Wschr.* 84:2285 (1959).
23. Jürgens, J.; Beller, F.K.: Klinische Methoden der Blutgerinnungsanalyse. Georg Thieme-Verlag, Stuttgart 1959.
24. Jürgens, J.: Das Verhalten des fibrinolytischen Systems bei der Leukämie. *Folia haem.* 8:1-4 (1963).
25. Kappert, A.: Experimentelle und klinische Untersuchungen über arterielle Thrombogenese und Fibrinolyse. *Helv. med.Acta, Suppl.* 40 (1962).
26. Koller, F.: Fibrinolyse. *Schweiz.med.Wschr.* 44:1233 (1960).

27. Künzer, W.: Blutgerinnung, Thrombocyten und Blutgefäße aus:
Linneweh, F.: Physiologische Entwicklung des
Kindes. Springer-Verlag Berlin, Göttingen, Heidel-
berg 1959.
28. Künzer, W.; Haberhausen, D.: Zur fibrinolytischen Aktivität
von Erythrocyten des Menschen und bestimmter
Tiere. Klin. Wschr. 41:831 (1963).
29. Künzer, W.; Ströder, J.: Profibrinolysin und Antifibrinolysin
bei Unreifegeborenen. Ann. paediat. 197:9-18 (1961).
30. Künzer, W.; Ströder, J.: Fibrinogen und Fibrinolyse im Blut
des Säuglings. Ann. paediat. 192:87 (1959).
31. Künzer, W.; Ströder, J.: Gerinnungsstudien bei Kindern:
Vergleichende Untersuchungen der Aktivitätsver-
luste von Gerinnungsfaktoren am aufbewahrten
Nabelschnur- und Erwachsenenblut. Ann. paediat.
Basel, 188:215 (1957).
32. Künzer, W.; Ströder, J.: Gerinnungsstudien bei Kindern:
Fibrinogen und Fibrinolyse im Nabelschnurblut.
Ann. paediat. Basel 188:207 (1957).
33. Landbeck, G.: Die Blutstillung; aus H. Wiesener: Einführung
in die Entwicklungsphysiologie des Kindes.
Springer-Verlag Berlin, Göttingen, Heidelberg,
(1964).
34. Larrieu, M.; Soulier, J.; Minkowski, A.: Le sang du cordon ombi-
lical: Etude complète de sa coagulabilité compari-
son avec le sang maternel. Etudes Néonatales.
1:39 (1952).
35. Lassen, M.: Heat Denaturation of Plasminogen in the Fibrin
Plate Method. Acta Physiol. Scand. 27:371 (1953).
36. Li, J. G.: Osgood, E. E.: A Method for the Rapid Separation of
Leukocytes and Nucleated Erythrocytes from blood
or Marrow with a Phythemagglutinin from Red Beans
(Phaseolus vulgaris), Blood 4, 670, (1949).
37. Linneweh, F.: Die physiologische Entwicklung des Kindes.
Springer-Verlag Berlin, Göttingen, Heidelberg
1959.
38. Löhr, G.; Waller, D.: Enzymverteilungsmuster und Energie-
stoffwechsel normaler und leukämischer weißer
Blutzellen des Menschen. Deutsche med. Wschr.
89:171 (1964).

39. Lüscher, E.F.: Experimentelle und therapeutische Fibrinolyse. *Thromb. Diath.haem.* 7, Suppl. 3:15 (1962).
40. Menking, M.: Thrombelastografische Untersuchungen bei Kindern unter besonderer Berücksichtigung der Neugeborenenperiode. Inaugural-Dissertation, Marburg/L. 1962
41. Oehme, J.: Über die Altersabhängigkeit von Retraktion und Profibrinolysin. *Kinderärztl.Prax.* 27:476 (1959).
42. Oehme, J.: Über die physiologischen Grundlagen der Blutstillung Neugeborener. *M Schr. Kinderheilk.* (im Druck).
43. Palmer, G.K.; Chen, H.P.: A Method for Isolating Leukocytes. *Amer.J.Clin.Pathol.* 30, 567, (1958).
44. Phillips, L.L.; Skrodelis, V.: A Comparison of the Fibrinolytic Enzyme System in Maternal and Umbilical Cord Blood *Pediatrics* 22:715 (1958).
45. Quick, A.; Georgatsos, J.; Hursey, C.: The Clotting Activity of Human Erythrocytes: Theoretical Clinical Implication. *Amer.J.Med.Sci.* 228:207 (1954).
46. Quie, P.G.; Wannamaker, L.W.: The Plasminogen-Plasmin System of Newborn Infants. *Amer.J.Dis.Child.* 100:836 (1960).
47. Rahn, B.: Über die Wirkung von hochgereinigter Streptokinase auf das fibrinolytische Potential im Menschen. Inaugural-Dissertation, Marburg/L. 1962.
48. Rahn, V.: Thrombelastographische und fibrinolytische Untersuchungen bei Kindern verschiedenen Alters. Inaugural-Dissertation, Marburg/L. 1963.
49. Rogner, G.: Die Blutgerinnung bei Frühgeburten. *Zschr.Kinderheilk.* 84:197 (1960).
50. Samartzis, E.; Cook, C.: The Relationship between Age and Fibrinolytic Activity of Serum. *Acta paed.* 49:724 (1960).
51. Schmidt, H.W.: In vitro-Untersuchungen zur Frage der Fibrinolyse und Thrombolyse durch Streptokinase. *Klin. Wschr.* 41:1010 (1963)
52. Sherry, S.; Fletcher, A.P.; Alkjaersig, N.: Fibrinolysis and Fibrinolytic Activity in Man. *Physiol. Rev.* Baltimore 39:343 (1959).

53. Sherry, S.; Lindemeyer, R.J.; Fletcher, A.P.; Alkjaersig, N.:
Studies of Enhanced Fibrinolytic Activity in Man.
J.Clin.Invest. 38:810 (1959).
54. Skoog, W.A.; Beck, W.S.: Studies on the Fibrinogen, Dextran,
Phythemagglutinin Methods of Isolating Leuko-
cytes; Blood XI, 436, (1956).
55. De Sousa, S.: Clotting Factors in the Newborn. Etudes Né-
onatales. 5:97 (1956).
56. Steichele, D.; Herschlein, J.: Proaktivator und Antiplasmin-
gehalt der Thrombocyten des Menschen und ver-
schiedener Versuchstiere. Med.Welt 1955 (1961).
57. Stramm, H.: Einführung in die Klinik der Fibrinolyse. Die
Messung der fibrinolytischen Aktivität.
S. Karger, Basel, 166 (1962).
58. Strässle, R.: Antifibrinolyse. Schweiz.Med.Wschr. 44:1249
(1960).
59. Townsend, P.: The Determination of Factors in Fibrinolysis
in Umbilical Venous Blood. Ann.paediat. 192:155
(1959).

L e b e n s l a u f

Am 30. August 1936 wurde ich als viertes Kind des Dozenten Dr.med. Adam Bocskor und seiner Ehefrau Maria, Dr. med., geb. Neukomm, in Budapest geboren. Nach dem Besuch einer Budapester Volksschule von 1942 bis 1946 wurde ich im Herbst 1946 in das "Széchenyi Istvan"-Gymnasium in Budapest aufgenommen, wo ich am 22. Juni 1954 die Reifeprüfung bestand. Aus politischen Gründen wurde mir die Aufnahme in die Universität verweigert; ich habe mich daher vorübergehend mit Gastronomie beschäftigt. Da ich im Oktober 1956 am ungarischen Freiheitskampf teilnahm, mußte ich meine Heimat verlassen. Ich wurde in Hessen aufgenommen und begann im Sommersemester 1957 mein Medizinstudium an der Philipps-Universität in Marburg, wo ich im April 1960 das Physikum ablegte. Das Wintersemester 1961/62 verbrachte ich an der Medizinischen Akademie in Düsseldorf. Zum Sommersemester 1962 kehrte ich nach Marburg zurück und bestand hier am 13. September 1963 das medizinische Staatsexamen. Im November 1963 begann ich meine Ausbildung als Medizinalassistent an der Universitäts-Kinderklinik Marburg (Dir. Prof. Dr. F. Linneweh).

Meine akademischen Lehrer waren die Herren Professoren und Dozenten:

in Marburg

Beckmann, Berendes, Bickel, Bock, Braun-Falco, Bücher, Dimroth, Dittrich, Exner, Förster, Gedick, Gross, Hamm, F.Hartmann, Hensel, Hildebrandt, Huber, Jacob, Lang, Linneweh, Linzbach, Mahr, v.Manger-König, Mattes, Maurath, W.Meyer, du Mesnil de Rochemont, H.A.Müller, Neubauer, Niessing, Nieth, Oehme, Oksche, Petry, Pirson, Ploog, Prinz, Rollhäuser, Seidel, Siegert, Siess, W.Schmid, Schmitz, Schölmerich, Schrappe, Schwaiger, Stein, Stender, Straub, Streicher, Vogt, Walcher, Wendt und Würterle;

in Düsseldorf

Bay, Dera, Dibbelt, Gerfeldt, Gerke, Gillmann, Grosse-Brockhoff, Haase, Irmer, Klinke, Meessen, Panse.

Zum Schluß möchte ich für alle Unterstützung bei der Fertigstellung dieser Arbeit danken, vor allem meinem Doktor-Vater, Herrn Professor Dr. J. Oehme, der die Arbeit mit ständigem Interesse überwachte und durch zahllose Ratschläge förderte.

Mein Dank gilt weiter Herrn Dr. med. C. Eschenbach für die wertvollen Ratschläge zur Technik der Leukocytenisolierung. Auch allen anderen Ärzten sowie den Schwestern und med.Tech.Assistentinnen der Universitäts-Kinderklinik und meiner Frau sei auf diesem Wege für ihre freundliche Hilfe herzlich gedankt.

